

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-224499

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>  
C 12 Q 1/34  
// C 12 Q 1/62

識別記号 庁内整理番号  
8213-4B  
8213-4B

⑭ 公開 昭和60年(1985)11月8日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑮ 発明の名称 安定なウリカーゼ製剤

⑯ 特 願 昭59-82630

⑰ 出 願 昭59(1984)4月23日

⑱ 発 明 者 林 勇 蔵 神戸市垂水区五色山町1丁目1番43号  
⑲ 出 願 人 東洋紡績株式会社 大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

明 細 書

1. 発明の名称

安定なウリカーゼ製剤

2. 特許請求の範囲

(I)非イオン性界面活性剤、(II)血清アルブミンおよび/または塩基性アミノ酸および(III)ウリカーゼを含有することを特徴とする安定なウリカーゼ製剤。

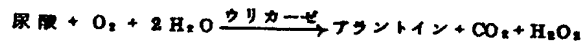
3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はウリカーゼを安定な状態で含有するウリカーゼ製剤に関するものである。

(従来技術との関係)

ウリカーゼは体液中の尿酸測定に適応され、診断用酵素剤として有用なものである。これらの測定方法の原理は下記反応式に基づき、生成する過酸化水素、炭酸ガス、アザノイン又は消費される酸素を測定することによる。



しかしながらウリカーゼを溶液状態に変換して

使用する場合、溶解時及び保存中に著しい変性が進んで混濁を発生し、測定精度に重大な悪影響を及ぼし、安定なウリカーゼ製剤が得難い欠点があった。

従来からウリカーゼ溶液に非イオン界面活性剤を添加することにより、ウリカーゼ溶液が安定化され沈澱物を生じないことが公知である(特公開48-6556号)。しかしながら、この溶液を凍結乾燥した後、再溶解させると若干濁りが発生する。

(発明の目的)

本発明者等はかかる欠点を解決するために鋭意検討した結果、以下に述べる様な組成からなる酵素製剤とすれば、凍結乾燥後溶解時にも溶液状態で保存しても前述の様な変性や濁りが生じないことを見出し、本発明を完成するに至った。

(発明の構成の説明)

すなわち本発明は(I)非イオン界面活性剤、(II)血清アルブミンおよび/または塩基性アミノ酸および(III)ウリカーゼを含有することを特徴とする安定

なウリカーゼ製剤である。

本発明のウリカーゼ製剤とは、ウリカーゼを必須成分として含有する他、非イオン性界面活性剤および血清アルブミン及び／または塩基性アミノ酸（以下これらを総称して安定化剤と述べる）を含有する。

ウリカーゼとしては動物起源、植物起源、微生物起源など如何なる起源のものでよいが酵母起源のものが好ましい。そして本発明におけるウリカーゼ製剤としては、上記の如きウリカーゼを単独で含有するものに限定されず、他の物質、例えば尿酸定量に必要な酵素並びに補酵素、更には基質、発色剤、又これらの安定化に必要な安定剤、防腐剤成分等を含有するものを総称する。なおウリカーゼ製剤は溶液状及び乾燥粉末状等任意の状態で提供されるものを含む。

本発明で用いられる非イオン性界面活性剤とは構造式、その他については全く制限がなく、種々のものを使用することができるが、代表的な非イオン性界面活性剤を表示するとポリオキシエチレ

ンアルキルエーテル型、ポリオキシエチレンアルキルフェノールエーテル型、ポリオキシエチレンアルキルエステル型等が挙げられる。

又血清アルブミンとしては動物、ヒト由来どちらでも良い。代表的なものとしてはウシ血清アルブミン、ウマ血清アルブミン、ヒト血清アルブミンが例示される。又塩基性アミノ酸としてはアルギニン、リジン、ヒスチジン並びにその塩が挙げられる。

前述の様な安定化剤の配合割合は安定化作用の強弱、或は安定化剤自体の化学的安定性、更には上記各安定化剤の併用等を考慮して定めれば良いが、一般的な目安を述べるとウリカーゼを含有する溶液に対して0.0001%～10%程度の範囲から選択すれば確実な効果が得られる。

上記安定化剤を含有するウリカーゼ製剤を得るに当っては、ウリカーゼ単独もしくはウリカーゼに他の酵素、補酵素、基質、発色剤、安定化剤、防腐剤等の併用剤を配合して溶液を調製する工程、該溶液に上記安定化剤を添加混合する工程、並び

に必要であれば該溶液を乾燥する工程を組合わせるが、最初に述べたウリカーゼ溶液の調製に際しては適切な緩衝液を選択した方がよい。好ましくは濃度1～500mM、pH6.0～9.5程度に設定した緩衝液に溶解することが望ましい。

次に安定化剤の添加混合に当っては上記ウリカーゼ溶液に安定化剤を直接配合するか、該安定化剤を一旦水あるいは緩衝液に分散乃至溶解してから添加し、常法に従って攪拌する。最後にこの混合液を乾燥させたいときは、凍結乾燥や噴霧乾燥等の常当手段をより用すれば良い。

#### （発明の効果）

本発明のウリカーゼ製剤は上記の様に構成されているので、安定なウリカーゼ製剤が得られ、尿酸測定精度に対する高い信頼性を与えることができ、極めて有用な診断用酵素製剤が提供されることとなった。

#### （実施例）

以下本発明を実施例をもって説明する。

#### 実施例1

酵母から得られたウリカーゼを用い、0.1Mホウ酸緩衝液（pH8.0）に10単位/mlとなる様に溶解し、この溶液に第1表の各化合物を加え、必要があればpH8.0に再調整した。得られた酵素製剤溶液をそのまま及び一旦凍結乾燥して再び溶解したものについて保存テスト（25℃、5日放置）をして、濁りの発生を見たのが第1表である。

第1表より明らかな様に非イオン性界面活性剤、血清アルブミン及び塩基性アミノ酸を添加したものは濁りの生成が少なかったが、無添加のものは著しく濁りを発生した。

## 実施例 2

下記組成からなる酵素製剤を調製した。

ウリカーゼ(酵母起源)	10単位
ペルオキシダーゼ(西洋わさび起源)	100単位
4-アミノアンチピリン	10mg
0.1 Mホウ酸緩衝液(pH8.0)	全量1ml

そこに第2表の各化合物を加え、必要あればpH 8.0に再調整してから凍結乾燥して得られた酵素粉末を下記の溶解液10mlに溶解してその保存性(25℃、5日放置)を濁りの発生で見たのが第2表である。

(溶解液)

0.1 Mリン酸緩衝液(pH7.0)

ジエチルアニリン 10mg

第2表より明らかな様に非イオン性界面活性剤、血清アルブミン及び塩基性アミノ酸を添加したものは濁りの生成が少なかったが、無添加のものは著しく濁りを発生した。

第 1 表

安定化剤	濃度(mg/ml)	凍結乾燥	濁り発生
1 ナ シ	—	有	+++
2 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	1	有	++
3 BSA	1	有	+
4 アルギニン	1	有	+
5 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	2	有	+
6 BSA	1	有	—
7 アルギニン	1	有	—
8 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	2	有	—
9 BSA	1	有	—
10 アルギニン	2	有	—

第 2 表

安定化剤	濃度(mg/ml)	濁り発生
1 ナ シ	—	++++
2 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	1	++
3 BSA	2	+
4 アルギニン	2	+
5 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	1	↑ ±
6 BSA	1	↑
7 ポリオキシエチレンオレイルエーテル	1	—
8 BSA	1	—
9 アルギニン	2	—